

# 調理, 加工による食品たんぱく質の 栄養価の変化 (第1報)

## グルコースとゼラチンの反応によるゼラチン 中の有効性リジンの減少について

新 納 英 夫\*  
松 原 恭 子

### Effect of Cooking on the Nutritive Value of Food Protein (Part 1)

### The Reaction between Glucose and Gelatin, and Available Lysine Content in Gelatin-Sugar Condensation Product

Hideo Nihiro and Kyoko Matubara

たんぱく質を糖とともに加熱したり, 長時間放置したりすると, たんぱく質構成成分であるアミノ酸残基と糖との間に反応が起り, 褐変化・その他のたんぱく質の変性が起ることが知られている。そしてこれにともなってたんぱく質の栄養価の低下が起る。アミノ酸と還元糖の反応による褐変化を最初に報告したのは Maillard<sup>1)</sup> で, この反応はメイラード反応またはアミノカルボニル反応として広く知られており, 乳製品,<sup>2)3)</sup> 製菓, 果実, 醤油, 味噌などに多くみられる。このさい種々のアミノ酸の中でとくにリジンがアルギニン, ヒスチジンとともにもっとも著しい褐変を示し, これらのアミノ酸は糖との反応による損失が大きい。<sup>2)3)</sup> Carpenter<sup>4)</sup> によるとたんぱく質分子中のリジンは $\epsilon$ -アミノ基の遊離のものと, それが他の物質と結合したものがあって,  $\epsilon$ -アミノ基が結合型になると栄養的にリジンとして働かず,  $\epsilon$ -アミノ基の修飾によってトリプシンのように塩基性アミノ酸残基のところでは消化酵素が働かなくなるため消化吸収が悪くなるとされている。それで栄養的にリジンとして働く $\epsilon$ -アミノ基の遊離の状態にあるものを有効性リジンとよ

び, この $\epsilon$ -アミノ基が糖と反応したとするとそれにもなつて当然栄養価が低下するわけである。

われわれは食品の調理・加工・貯蔵などにもなうたんぱく質の栄養価の変化を研究するに当って, まずこの糖との反応による問題をとりあげた。たんぱく質材料としては比較的純粋で, その他の有機物, 無機質の含有量が少なく, かつリジン含量の多い単純たんぱく質であるゼラチンを選び, 糖としてはブドウ糖を使用した。食品の調理・加工の条件およびアミノカルボニル反応に影響をおよぼすといわれている因子を考慮して, 糖とゼラチンの比, 反応時間, 温度, pH, 水分含量, 塩濃度などを変化させた場合にゼラチン中の有効性リジン含量がどのように変化するかを調べてみた。

### 1. 実験の部

#### 1-1. 試料

ゼラチンは新田ゼラチン株式会社製のゼラチン「雪」を, グルコースは試薬特級を使用した。

#### 1-2. アミノ酸窒素の定量

マイクロケルダール法によつた。窒素量にゼラチンの

\*本学栄養化学研究室

蛋白係数5.62を乗じたものを蛋白質量とした。

### I—Ⅲ. 総リジンの定量

試料 1g を共沸塩酸 5ml とともにガラス製加水分解管に入れ、脱気、封管後 110°C 恒温加水分解炉中で20時間加水分解する。冷却後加水分解液を減圧濃縮して塩酸をできるだけ除き、検液の pH がほぼ5になるように水酸化ナトリウム溶液を加えて調節しつつ適当な濃度に稀釈し、定容とする。

この検液の一定量について<sup>5)</sup> 迫田らのリジンをあらかじめ臭素化したのちフェノール試薬で発色させて比色定量する方法によってリジンの定量をした。リジンの検量線は市販特級リジン塩酸塩を用いて作成した。

### I—Ⅳ. 有効性リジンの定量

<sup>4)</sup> Carpenter らの方法により有効性リジンの定量を行った。

#### A. 試料のDNP化および加水分解

試料 0.1g を 50ml 容の丸底フラスコ中で約 2.7ml の10% NaHCO<sub>3</sub> 溶液に分散させ、4.1ml のDNFB液(エタノール 4ml に 2,4-Dinitrofluorobenzene 0.1ml を溶かしたもの)を加えて暗所で2時間振とうする。次にエタノールを減圧留去したのち、8ml の共沸塩酸とともにガラス管に入れ、ガラス管中の空気をできるだけ除いて封管したのち 110°C 恒温加水分解炉中で24時間加水分解する。冷却後内容物を濾過し、濾液と洗液を合せて 50ml の定容とした。このうちの 20ml についてケルダール法で窒素を定量した。

#### B. 比色によるε-DNPリジンの定量

Aの実験でえられた 50ml の分解液のうち 30ml をとり、25ml のエチルエーテルで2回、10ml で5回抽出する。全抽出液を合し、水 10ml (あらかじめ 6N 塩酸 1滴を加えておく) で3回抽出し、抽出液を先の水相と合せて 100ml の定容とした。その 10ml をさらに 100ml に稀釈したのち島津ボッシュロムスペクトロニック20回析格子型光電比色計を用い、波長 360 mμ での吸光度を測定し、あらかじめ ε-DNPリジンを用いて作成した検量線を用いて ε-DNPリジン含量を求めた。検量線の作成に用いた ε-DNPリジンは Porter, Sanger<sup>6)</sup> らのリジンを銅塩にしたのち DNP 化する方法により調製し、精製して分析値が C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub>N<sub>4</sub>·HCl·H<sub>2</sub>O になるようにしたものを用いた。

原料ゼラチンについて測定すると、ゼラチン 1g 中の ε-DNP 化するリジンは 0.325 mmol、総リジン量は 0.338 mmol となり、ゼラチン中のリジンの96.2%が有効性リジンであった。

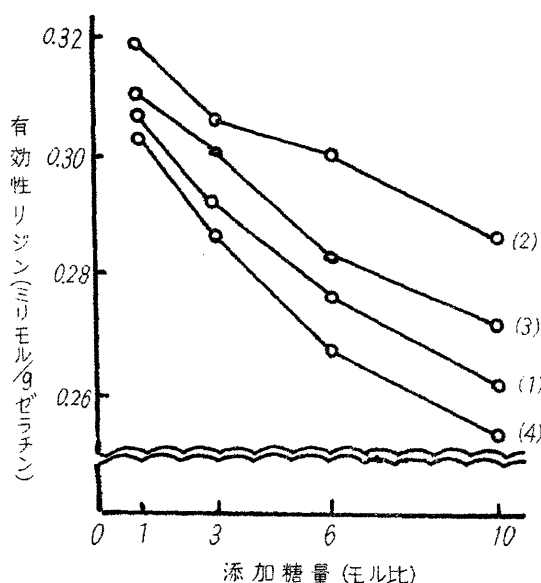
### I—V. 反応におよぼすグルコースとゼラチンの比および温度の影響

ゼラチン 2g に、その中に含まれるリジン1モルに対しグルコースをそれぞれ 1, 3, 6, 10モルに相当する量を 10ml の水に溶かして加え、温めてよく混合溶解させたのち、つぎの条件で放置して反応させた。

- (1) 冷蔵庫(約 5°C)中で1カ月。
- (2) 37°C(恒温器)中で1週間。
- (3) 60°C(恒温槽)中で2日間。
- (4) 100°C(沸騰湯煎)中で2時間。

反応終了後糖質を除くため50%エタノールで洗滌を繰返したのち、減圧デシケーター中で充分乾燥したものを試料とした。

この試料を加水分解してゼラチン 1g 当りの有効性リジンの変化を調べると第1図および第1表のようになる。



第1図 添加糖量および温度変化が有効性リジン含量におよぼす影響

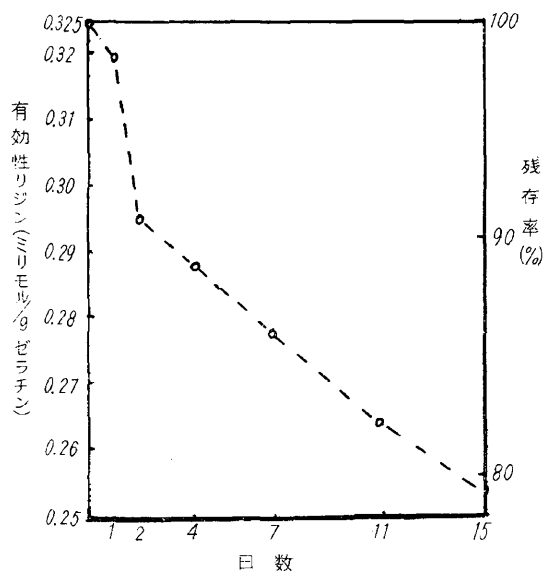
- (1) 冷蔵庫中1カ月
- (2) 37°C 7日
- (3) 60°C 2日
- (4) 100°C 2時間

第1表 添加糖量および温度変化が有効性リジン含量におよぼす影響

ゼラチン 1g 中の有効性リジン量 (ミリモル)				
糖量	1	3	6	10
温度・期間				
冷蔵庫(1 カ月)	0.308	0.289	0.277	0.262
37°C (1 週間)	0.318	0.306	0.300	0.287
60°C (2 日間)	0.310	0.302	0.283	0.272
100°C (2 日間)	0.306	0.287	0.268	0.253

以上の結果よりゼラチンのグルコースに対する比および反応温度がリジン残基の  $\epsilon$ -アミノ基とグルコースの反応に影響する大きな要因であることが明らかである。高温で長時間反応させれば有効性リジンの損失が著しいのは当然であるが、冷蔵庫に保存しても糖が10モルの場合は1カ月で20%の有効性リジンの失われることは注目される。

また時間の経過による影響を  $37^{\circ}\text{C}$  でグルコース10モル添加で15日間調べたのが第2図である。最初の1



第2図 時間的变化  
添加グルコース 10モル(モル比)  
 $\text{pH } 7.0, 37^{\circ}\text{C}$

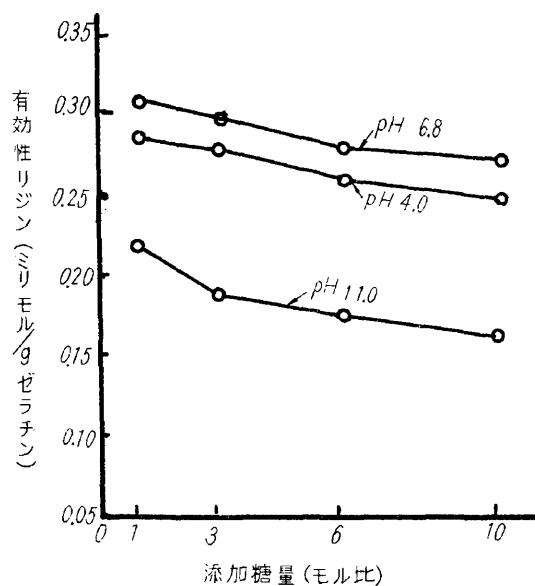
日では有効性リジンの損失は少ないが2日目以後かなりの速度で反応が起り15日間に20%以上の有効性リジンが失われた。

#### I—VI. pH の影響

ゼラチンとグルコースの割合はVと同様にし、水の代りに 10ml の緩衝液を加え、溶解後 0.1N 塩酸あるいは 0.1N 水酸化ナトリウムを用いて pH を調整した。緩衝液としては酸性側、クエン酸ナトリウム—塩酸、アルカリ性側、硼酸ナトリウム—水酸化ナトリウムの緩衝液を使用した。

pH 4.0, pH 6.8 および pH 11.0 で  $60^{\circ}\text{C}$ 、2日間反応させた場合の有効性リジンの変化は第3図および第2表の通りである。

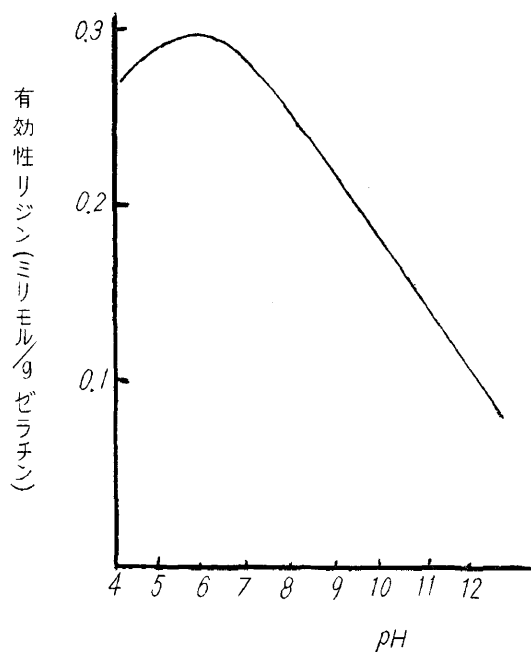
またグルコースの添加量をリジン残基当り 6 モルとし、pH 4.0~12.2 を10段階に分けて反応させたところ第4図および第3表のようになった。



第3図 pH の影響 (I)  
 $60^{\circ}\text{C}$ 、48時間

第2表 pH の変化が有効性リジン含量におよぼす影響 (I)  
ゼラチン 1g 中の有効性リジン含量 (ミリモル)

糖量 \ pH	1	3	6	10
pH 4.0	0.286	0.285	0.261	0.259
pH 6.8	0.310	0.302	0.283	0.272
pH 11.0	0.202	0.192	0.181	0.167



第4図 pH の影響 (II)  
添加グルコース 6 モル(モル比)  
 $60^{\circ}\text{C}$ 、48時間

第3表 pH の変化が有効性リジン含量におよぼす影響 (Ⅱ)

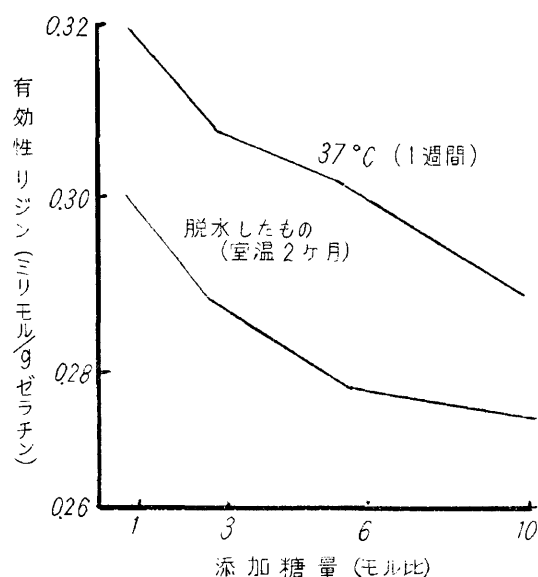
ゼラチン 1g 中の有効性リジン含量(ミリモル)

pH 4.0	pH 4.5	pH 4.8	pH 5.8	pH 6.4
0.264	0.284	0.292	0.295	0.297
pH 9.4	pH 10.0	pH 10.4	pH 11.4	pH 12.2
0.199	0.181	0.175	0.127	0.080

以上のようにゼラチンをグルコースと加熱する場合、液の pH が酸性あるいはアルカリ性側とも中性よりはなれるにつれて有効性リジンの損失が増加する。とくにアルカリ性が増すと有効性リジンの損失は半分以上にもなり、褐変化が起る。一方酸性では褐変化はほとんどみられない。pH 11 以上では褐変化はとくに著しくなり、悪臭を発生する。そしてこれにともなって熱水不溶となり、膨潤性も減少した。pH 12.2 以上で反応させると溶液からゼラチンと糖の反応生成物が分離してくる。pH 12.2 では液の分離はみられないが、液中にゼラチンの凝固した斑点状のものがみられた。pH 9.5~12.0 では反応後均一に固まったままで熱水不溶のゲルになり、pH 8~9 では熱水可溶の不安定なゲルとなり、pH 7.5 以下では水溶性に変化はみられなかった。

第2表、第3表より酸性側ではアルカリ側より少ないがかなりの有効性リジンが損失することは、ゼラチンを食用にする場合、酸性で用いることが多いので、注意する必要があると思われる。

Ⅰ—Ⅶ. 水分含量がリジン残基とグルコースの反応におよぼす影響



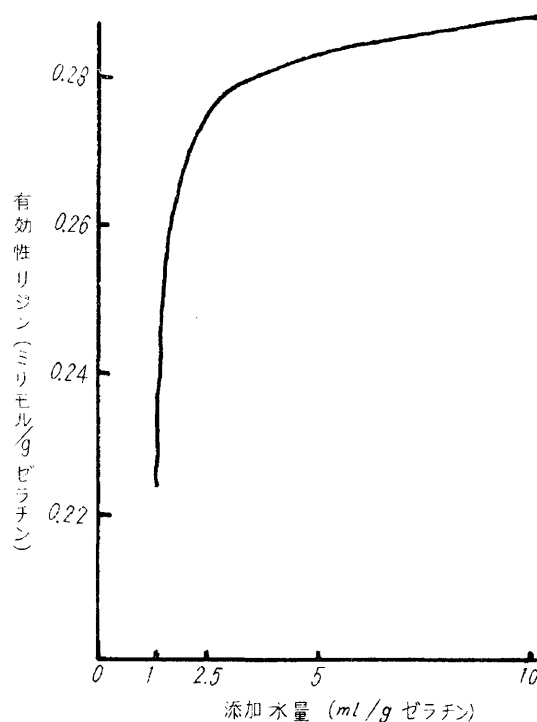
第5図 水分含量の影響 (Ⅰ)

アミノ酸と糖との反応が水分含量により影響されるといわれているので、Vの条件で作ったゼラチンとグルコースの混合液を凍結乾燥して水分含量をゼラチンに対し16~18%にしたものを作り、ガラス管に封入したのち2カ月間(7月~8月)室温に放置したものと、脱水することなく37°C恒温器中で1週間放置したものについて有効性リジンを測定した結果が第5図および第4表となる。

第4表 脱水した場合の有効性リジンの変化  
ゼラチン 1g 中の有効性リジン含量(ミリモル)

糖量	1	3	6	10
37° (1週間)	0.318	0.306	0.300	0.287
脱水した試料	0.300	0.286	0.277	0.274

このように水分含量を少なくしてもリジン残基とグルコース間に反応が起ることが明らかであり、水分含量が少いとこえて反応が促進されと考えられたので、グルコースの添加量をリジン残基1モル当り6モルとして、添加水量をゼラチン2g当り2, 5, 10, 20mlと変え、60°Cの恒温槽中で2日間反応させた。この試料について有効性リジン量を測定した結果が第6図および第5表となる。

第6図 水分含量の影響 (Ⅱ)  
添加グルコース 6モル(モル比)  
60°C, 48時間

第5表 水分量がゼラチンとグルコースの反応におよぼす影響

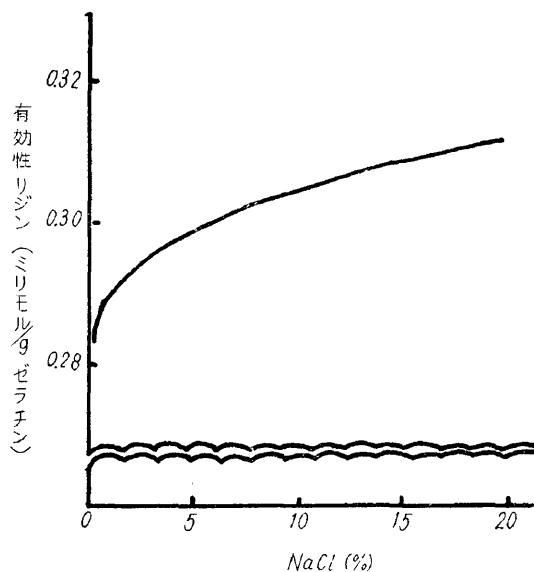
ゼラチン 1g 中の有効性リジン含量(ミリモル)

添加水量ml	2	5	10	20
有効性リジン	0.224	0.277	0.287	0.289

以上の結果より水量は少ないほどリジンとグルコースの反応が促進され、これと平行して褐変が進む。ことに第4表に示されるように、あらかじめグルコースと充分混合したのち脱水した試料は室温に放置しただけで有効性リジンがかなり減少した。リジン残基当り10モルのグルコースは、ゼラチンたんぱく質 1g 当り約 0.6g である。このような日常使用される程度のグルコースの添加で、水分量の少ないときはかなりの有効性リジンの損失がみられる。このことは調味されたインスタント食品は貯蔵中にかなりの速度で有効性リジンが減少することを示すもので、グルコースの使用に当っては注意すべきである。

## I-VIII. 食塩の添加がゼラチンとグルコースの反応におよぼす影響

食品の調味には糖とともに食塩が通常使用されるので、食塩添加の影響を調べた。グルコース添加量はリジン残基 1 モル当り 6 モルとし、水のかわりに 1%, 5%, 10%, 15% および 20% の食塩水をゼラチン 2g 当り 10ml 加え、60°C で 2 日間反応させたのち前同様に処理した。この場合の有効性リジンの変化は第7図および第6表の通りである。

第7図 食塩添加の影響 (I)  
添加グルコース 6 モル(モル比)  
60°C, 48時間

第6表 食塩の添加がゼラチンとグルコースの反応におよぼす影響 (I)

ゼラチン 1g 中の有効性リジン含量(ミリモル)

NaCl %	0	1	5	10	15	20
有効性リジン	0.283	0.289	0.297	0.300	0.307	0.312

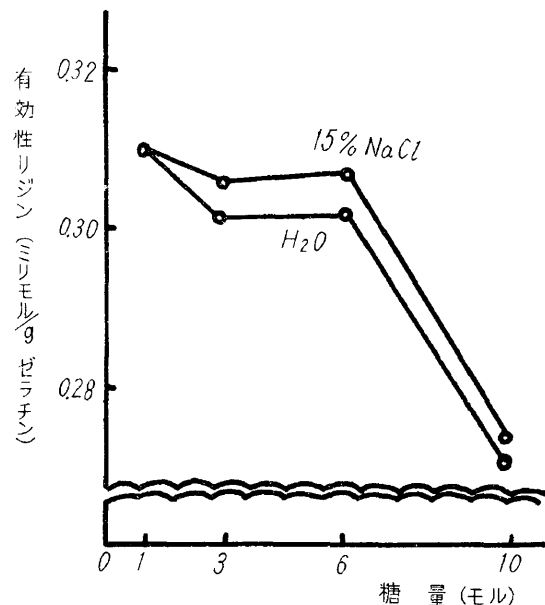
つぎに食塩の添加量を15%とし、グルコースの添加量を前と同じくゼラチン中の ε-アミノ基に対し 1, 3, 6, 10 と変えて反応させた結果が第7表である。

第7表 食塩の添加がゼラチンとグルコースの反応におよぼす影響 (II)

ゼラチン 1g 中の有効性リジン含量(ミリモル)

グルコース	1	3	6	10
15% NaCl	0.310	0.306	0.307	0.274
水	0.310	0.302	0.283	0.272

これを図にすると第8図となる。食塩無添加の場合も示してある。



第8図 食塩添加の影響 (II)

以上の結果は食塩の添加はゼラチン中の ε-アミノ基とグルコースの反応を阻害し、有効性リジンの減少をふせぐことを示している。食塩の添加は 0 ~ 20% の間では添加量が多いほどリジンの損失が少なく、第6表の場合 20% の食塩添加で無添加の場合の 13% の損失を 4% まで減少させた。しかし第7表の 10 モルのグルコースを添加した場合には食塩 15% を添加しても有効

性リジンの減少をほとんど防止することができなかった。これらの結果より塩蔵食品を除き、通常の食品加工中の食塩添加ではグルコースと食品たんぱく中の遊離アミノ基との反応を防止することは期待できない。

## Ⅱ. 総 括

食品たんぱく質の調理、加工中における有効性リジンの損失についての基礎的研究として、ゼラチンとグルコースを種々の条件で反応させ、有効性リジン含量の変化を調べた結果をえた。

1. グルコースとゼラチンの反応に pH が非常に関係し、中性でもっとも反応がおそく、酸性あるいはアルカリ性が増すと反応速度が増して有効性リジンの損失が増大する。しかし酸性側では損失は比較的少なく、褐変化はほとんど起らないが、アルカリ性では pH の増加につれて急速に有効性リジンの損失が増し、ゼラチンは褐変化し、熱水不溶となる。

2. 反応液の水分含量は反応速度に大きく影響する。本実験の範囲では水分含量が少ないほど反応速度が大となり、有効性リジンの損失が大きい。すなわち実際の貯蔵食品やゼリー、ジャム類の水分含量である 16~50%位の水分では、室温、中性~弱酸性の条件でもかなりの有効性リジンの損失がみられたことは注目される。

3. 反応温度が高いほど有効性リジンの損失が大で、100°C では 1~2 時間の加熱でかなりの有効性リジンが損失する。一方冷蔵庫に貯えても 1 カ月でグルコース添加量の多い場合では 20% もの有効性リジンが損失した。

以上の結果はゼラチンに限らず食品たんぱく質に共通すると考えられるので、水分含量が少なく、貯蔵期間もかなり長いと考えられるゼリーその他の菓子類や

インスタント食品中のたんぱく質の有効性リジンはかなり減少しているものと思われる。しかもこれらの食品はリジンの必要量の大きい成長期の子供によって多く摂取され、生活程度の向上につれて間食としての菓子の摂取量および加工食品の使用は増加すると考えられるので、この点よりもさらに研究する必要があると思われる。

現在のところリジンと糖の反応物が吸収されても体内でリジンとして用いられることがないとされているが、この反応物が体内でいかに利用されるか、また有害作用はないかについては知られていない。

なおグルコースと反応させたゼラチンについて人工消化試験を行なったところ、いずれも消化性が低下していた。消化率の低下は反応時の pH が酸性およびアルカリ性を増すにつれて大となるが、ことにアルカリ性で反応させたものは溶解性の低下とともに消化率の低下は著しかった。またシロネズミを用いて飼育実験を行なった結果も消化吸収率の低下ならびにたんぱく質の栄養価ことにリジンの利用率の低下がみられたがこれについては後に報告する。

## 参 考 文 献

- 1) Maillard. B.C; *Compt. rend.*, **154**, 66 (1912)
- 2) Reynolds. T.M.; *Adv. Food. Res.*, **12**, 1 (1963)
- 3) 千畑一郎, 伊藤博, 川島啓助; 栄養と食糧, **19**, 1 (1966)
- 4) Carpenter. K.J., Ellinger G.M; *Biochem J.*, **61** xi (1955)
- 5) 迫田真一, 岡田吉美, 占部裕子; 日化, **76**, 1146 (1955)
- 6) Porter, R.R., Sanger, F.; *Biochem J.*, **42** 287 (1948)